

新規ジヒドロピリジン系カルシウムチャネル拮抗薬 プラニジピンの薬理学的特性の検討

著者	平野 隆弘
号	419
発行年	1999
URL	http://hdl.handle.net/10097/15551

氏 名 (本籍) ^{ひら}平 ^の野 ^{たか}隆 ^{ひろ}弘

学 位 の 種 類 博 士 (薬 学)

学 位 記 番 号 薬 第 4 1 9 号

学位授与年月日 平 成 12 年 3 月 2 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項該当

学 位 論 文 題 目 新規ジヒドロピリジン系カルシウムチャネル拮抗薬
プラニジピンの薬理学的特性の検討

論文審査委員 (主 査)
教授 佐 藤 進 教授 大 内 和 雄

教授 寺 崎 哲 也

論文内容要旨

プラニジピンは、長時間作用型の 1,4-ジヒドロピリジン系 (1,4-DHP 系) カルシウム拮抗薬である。1,4-DHP 誘導体は、光学異性体を有する化合物が多く、作用力価が両異性体で異なる化合物の他、幾つかの化合物においては 2 種の異性体がカルシウムチャネルの拮抗薬と作動薬という相反する作用を示す。プラニジピンも同様に光学異性体を有するため、本研究の第 1 章では、異性体間の薬理学的差異を、ラット摘出大動脈標本および麻酔下自然発症高血圧ラット (SHR) を用い検討した。さらに、これら異性体のコンピュータによる安定構造計算予測を行い、従来から提唱されている 1,4-DHP の構造活性相関との類似性について考察を加えた。プラニジピンは、すでに臨床試験および動物モデルにおいて、高血圧ならびに狭心症治療薬としての有効性が証明されている。さらにプラニジピンは、既存のカルシウム拮抗薬と異なり、ラット摘出大動脈標本において、内皮依存性弛緩反応を延長する作用を有することが見出されている。しかし、その作用メカニズムおよび生体への影響については解明されていなかった。そこで第 2 章では、その作用メカニズムを様々な *in vitro* の実験系で解析し、第 3 章でその作用に基づく静脈系への影響について麻酔下ラットを用い検討した。

<第 1 章>

1,4-DHP は、光学異性体を有する化合物が多く、作用力価が両異性体で異なる化合物の他、2 種の異性体がカルシウムチャネルの拮抗薬と作動薬という相反する作用を示す化合物が報告されている。プラニジピンも、同様に dihydropyridine 環の 4 位に不斉中心を有するため、2 種類の光学異性体が存在する。そこで、これら異性体間の薬理学的作用を、ラット摘出大動脈標本および麻酔下自然発症高血圧ラットを用い比較検討した。80 mM KCl によって脱分極させたラット摘出大動脈リング標本に累積的に CaCl_2 を適用すると濃度依存的な張力が発生し、 $10^{-10} \sim 10^{-9}$ M でプラニジピンの S(+)-体は、この CaCl_2 濃度-収縮曲線を濃度依存的に右方向に移動させた。一方 R(-)-体も、 CaCl_2 濃度-収縮曲線を用量依存的に右方向に移動させたが、その濃度は $10^{-8} \sim 10^{-7}$ M であった。これらのデータから、拮抗作用の濃度の指標である pA_2 値を求めると、S(+)-体の抗力は、R(-)-体と比較し約 50 倍強いことが示唆された。麻酔下自然発症高血圧ラットにおいて、ラセミ体および S(+)-体は、1 ~ 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (i.v.) で用量依存的な降圧作用を示した。ラセミ体および S(+)-体の収縮期血圧における ED-25 mmHg 値 (血圧を 25 mmHg 低下させる薬物用量) は、それぞれ 2.5 および 1.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、拡張期血圧における ED-25 mmHg 値は、それぞれ 2.2 および 1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。すなわち、S(+)-体はラセミ体に比べ、約 1.8 倍強い降圧作用を示した。一方、R(-)-体では、30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量でも 25 mmHg 以上の降圧作用は認められなかった。以上の結果から、プラニジピンは両異性体共にカルシウム拮抗作用を有し、その作用には、主に S(+)-体が関与していることが示唆された。プラニジピン光学異性体の安定構造計算予測を行うと、ジヒドロピリジン環は、平面ボート構造であり、4 位のフェニル基は、axial に位置し、かつジヒドロピリジン環に直角であった。また、シンナモイルエステル置換基およびメチルエステル置換基の有するカルボニル基部分は、ジヒドロピリジン環の

二重結合に対し、それぞれ trans および cis の位置関係を示していた。これらの結果は、従来から提唱されている 1,4-DHP の構造活性相関と良く一致していた。

＜第 2 章＞

プラニジピンは、既存のカルシウム拮抗薬であるニフェジピン、ジルチアゼムおよびベラパミルなどと異なり、ラット摘出大動脈標本において、アセチルコリンによる内皮依存性弛緩反応を延長する作用を有する。そこで、その詳細なメカニズムを解明するため種々の検討を行った。このプラニジピンの作用は、代表的な長時間作用型 1,4-DHP であるアムロジピンでは生じなかったことから、1,4-DHP 系薬物に共通の作用ではないと考えられた。またインドメタシンで影響されなかったことから、プロスタグランジン類の関与は否定された。次に内皮由来弛緩因子の関与について検討するため、一酸化窒素 (NO) 合成阻害薬である N^G-nitro-L-arginine 存在下でアセチルコリンの反応を観察したところ、アセチルコリンによる弛緩はほとんど認められず、その条件下ではプラニジピンは何ら作用を発現しなかった。以上の結果から、プラニジピンの作用は NO による弛緩反応のカスケードに働いているものと考えられた。しかし、セカンドメッセンジャーであるサイクリック GMP (cGMP) の増加を経時的に調べたが、予想に反しプラニジピンの有無で差は認められなかった。cGMP の量に差がないにも関わらず、弛緩作用に差がでる可能性として、収縮タンパクのカルシウム感受性や cGMP の弛緩に対するプラニジピンの直接作用が考えられた。そこで、それらプラニジピンの作用の有無を α -トキシン処置による血管のスキンド標本を用い検討したが、何ら影響は認められなかった。また、グアニル酸シクラーゼ阻害薬であるメチレンブルー存在下でアセチルコリンを添加してみると、コントロールではほとんど弛緩が消失したが、プラニジピン存在下では小さいが明らかな弛緩が認められた。さらに、内皮除去標本において、プラニジピンは NO の供与体であるニトログリセリンの弛緩作用の持続を延長し、さらにメチレンブルー処置下に残存するニトログリセリンの弛緩作用も増強した。このメチレンブルー抵抗性のニトログリセリンによる弛緩反応は、カルシウム活性化カリウムチャネル阻害剤であるイベリオトキシンおよびカリブドトキシンによりほぼ完全に消失したが、プラニジピンは、この状態においても、有意な弛緩反応を示した。以上の結果から、血管平滑筋には、グアニル酸シクラーゼ-cGMP を介さない NO による弛緩のメカニズムが存在し、それをプラニジピンが増強する可能性が示唆された。また、この作用は、カルシウム活性化カリウムチャネル由来の膜過分極反応に依存しないことが確認された。

＜第 3 章＞

プラニジピンは、ブタ冠動脈閉塞再灌流モデルにおける左室拡張終期圧の上昇および狭心症患者の運動負荷試験による肺動脈せつ入圧の上昇を抑制することから、心収縮の前負荷を軽減する可能性が示唆されている。また、第 2 章からは、プラニジピンが cGMP 非依存性に NO による内皮依存性弛緩を増強する作用を有することが示唆された。NO 供与体は、一般的に動脈拡張作用と共に強い静脈拡張作用を有することが知られている。よって、プラニジピンは、他の 1,4-DHP 系薬物と比較し、より大きく静脈を拡張さ

せると考えられる。そこで、麻酔下ラットにおいて、静脈拡張の指標となる平均循環充満圧 (MCFP) に対するプラニジピンの作用を、ニフェジピンおよびアムロジピンと比較検討した。MCFP は、右心房内に挿入したバルーンに0.2 ml の生理食塩水を注入し、全身循環を停止させることにより測定した。各被験薬物の用量は、互いに同程度降圧作用を示す2用量を設定した。10および30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (i.v.) の用量のプラニジピンは、ニトログリセリンと同様に、用量依存的に MCFP を低下させた。一方、ニフェジピン (30および100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.v.) は、MCFP を有意に低下させず、アムロジピン (1000および3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.v.) は、高用量でのみ有意に低下させた。被験薬物間で検定を行ったところ、高用量でのプラニジピンの MCFP 低下作用は、ニフェジピンおよびアムロジピンと比較し有意に大きかった。つまりプラニジピンは、ニフェジピンおよびアムロジピンと比較し、強い静脈拡張作用を有する可能性が示唆された。

以上本研究より、プラニジピンには光学異性体が存在するが、そのカルシウム拮抗作用には主に S(+)-体が関与することが確認された。この結果は、従来から提唱されている 1,4-DHP の構造活性相関と良く一致していた。また、プラニジピンは cGMP 非依存性に NO による血管平滑筋弛緩反応を増強するというユニークな作用を有することが示唆された。さらに、そのプロファイルから静脈系に対する作用を検討したところ、プラニジピンは、代表的な 1,4-DHP であるニフェジピンおよびアムロジピンと比較し、より強い静脈拡張作用を有する可能性が示唆され、この作用は心疾患における前負荷軽減に貢献するものと期待される。

審査結果の要旨

1,4-ジヒドロピリジン (DHP) 系カルシウム拮抗薬は、他のカルシウム拮抗薬に比較して心抑制作用は弱いが血管選択性が高く、安定した降圧作用並びに副作用が少ないことから、高血圧および狭心症治療薬として繁用されてきた。本研究は、新規 DHP 系カルシウム拮抗薬プラニジピンの光学異性体間の薬理学的差異、安定構造計算予測と構造活性相関との類似性について検討した。さらに従来のカルシウム拮抗薬とは異なる内皮依存性弛緩反応の延長作用、特に静脈拡張作用について検討し、以下の新知見を得た。

1) 2種類の光学異性体の薬理学的作用を比較検討し、プラニジピンが両異性体共にカルシウム拮抗作用を有すること、その作用は S(+)-体が R(-)-体に比べてラット摘出大動脈標本におけるカルシウム拮抗作用で約50倍、麻酔下高血圧自然発症ラットを用いた降圧作用で1.8倍強力であることを示し、プラニジピンの主たる薬理作用は S(+)-体に起因することを明らかにした。さらに、光学異性体の安定構造計算予測の結果は従来から提唱されている構造活性相関と一致することを確認した。

2) 従来のカルシウム拮抗薬にはない内皮依存性弛緩反応の解析を血管のスキンド標本を用いて行った結果、その作用は血管平滑筋のグアニル酸サイクレース-cGMP系を介さない NO による弛緩のメカニズムの増強に起因することを明らかにした。加えて、cGMP 非依存性のメカニズムを解析するために行ったカルシウム活性化カリウムチャネル阻害下のラット摘出大動脈標本でも弛緩反応を示したことから、プラニジピンの作用は、カルシウム活性化カリウムチャネル由来の膜過分極反応に依存しないことを示唆した。

3) 多くの典型的な DHP 系カルシウム拮抗薬は NO 供与体を介する静脈拡張作用をほとんど有さない。しかし、前項でプラニジピンが cGMP に非依存性に NO による弛緩作用を示したことからその静脈拡張作用を検討した結果、プラニジピンが他の DHP 系カルシウム拮抗薬に比較してより強い静脈拡張作用を有することを示唆した。この作用は、細動脈の拡張にもかかわらず細静脈が拡張しないために招来される毛細血管内圧上昇による四肢の浮腫を生じやすい他のカルシウム拮抗薬に比べ、プラニジピンが浮腫を惹起し難いこと、心疾患における前負荷軽減作用に貢献することが期待される。

以上、本研究で得られた内容は、幅広い評価系を駆使して得た多くの新知見を含み、本研究分野において有用な情報を提供するばかりでなく、循環器疾患のリスクファクターを軽減する視野を含んだ循環器病治療薬としての開発の一方を示唆したものとして注目される。

よって、本論文は博士（薬学）の学位論文として合格と認める。